No 19. **J. Gallera,** Zürich. — Recherches comparées sur le développement du neurectoblaste préchordal transplanté sur l'embryon ou enrobé dans l'ectoblaste *in vitro (Triton alpestris).* Avec 5 figures dans le texte.

Aus den Zoologisch-vergl. anatomischen Institut der Universität Zürich.

Introduction. — Dans un travail récent [1] nous avons pu fournir quelques arguments nouveaux en faveur de la thèse que l'induction du cerveau antérieur est effectivement un processus progressif. Au fur et à mesure du développement embryonnaire la teneur du neurectoblaste en substances inductrices (sous leur forme primitive ou déjà modifiée) responsables de ses différenciations ultérieures augmente d'une façon inégale dans différentes parties de la plaque cérébrale présomptive. Les expériences de l'étude mentionnée ont été réalisées sur l'Axolotl et le *Pleurodeles* Waltii. Il s'agissait de la transplantation, sur la face ventrale d'autres embryons de la même espèce, soit de petits fragments définis et prélevés aux stades successifs du développement, soit de toute la partie préchordale de la plaque neurale. Nous avons constaté que les possibilités évolutives atteintes successivement par le neurectoblaste préchordal s'ordonnent comme suit : de l'épiblaste et de la crête neurale dissoute en éléments pigmentaires et ectomésenchymateux; des structures neuroïdales, c'est-à-dire des formations neurales atypiques et avortées; une vésicule cérébrale pourvue éventuellement de l'épiphyse; ou même d'un œil. Il est évident que cette gamme n'a pu être réalisée entièrement que par le greffon provenant de la région de la plaque neurale destinée à former au cours du développement normal les structures les plus évoluées.

Dans tous les cas où on examine les effets de transplantations l'influence de l'ambiance nouvelle doit être prise en considération. Dans mes expériences, l'influence exercée par les tissus adjacents de l'hôte sur le développement du matériel greffé s'est manifestée dans les cas, d'ailleurs exceptionnels, d'induction assimilatrice

[1] Arch. Biol. T. 58, 1947.

bizarre (formation de tubes d'aspect pancréatiques ou de cartilages aux dépens du greffon) et surtout dans l'épaississement marqué des portions du greffon orientées vers le tractus digestif de l'hôte[1].

Dans cette communication je présenterai les résultats d'expériences, en quelque sorte complémentaires, visant ce dernier problème et réalisées sur le *Triton alpestris*. L'une de ces séries d'expériences consistait à transplanter toute la partie préchordale de la plaque cérébrale sur la face ventrale d'une jeune neurula, l'autre à cultiver cette partie du neurectoblaste enrobé dans l'épiblaste ventral en solution de Holtfreter. Dans l'un et l'autre cas, le bourrelet cérébral n'étant pas entamé, le lambeau neurectoblastique prélevé ne contenait pas de crête neurale présomptive. Les fragments excisés de la plaque neurale avaient été séparés soigneusement du matériel sous-jacent, ils étaient exclusivement neurectoblastiques.

Méthode. — Les donneurs ont été opérés depuis le stade de la gastrulation avancée jusqu'à l'apparition des bourrelets médullaires. La localisation du matériel prélevé a été faite directement quand il s'agissait de neurulas; dans les cas où les embryons ont été opérés plus tôt, l'endroit du matériel prélevé n'a pu être repéré que rétrospectivement, après l'élevage du donneur pendant un temps suffisant. Dans ces cas, le matériel prélevé était remplacé par un fragment correspondant du neurectoblaste d'un autre embryon coloré préalablement au bleu de Nil. Les portions excisées de la plaque neurale étaient ou bien transplantées sur la face ventrale d'autres embryons ou placées entre deux lambeaux d'épiblaste ventral de jeune neurula, exceptionnellement de gastrula avancée. Les « sandwichs » ainsi faits étaient cultivés sur le fond d'agar dans la solution d'Holtfreter, mais sans bicarbonate de sodium[2]. Pour diminuer le danger d'infection j'ajoutais de l'elkosine[3] (1 gr. pour 1 litre) à la solution. Les sandwichs et les embryons, tant hôtes que donneurs, étaient cultivés pendant une semaine. Au terme de l'élevage les donneurs étaient déjà pourvus d'yeux fortement pigmentés et de branchies bien développées.

Tout mon matériel a été examiné sur coupes sériées.

Holtfreter a démontré récemment que chez l'*Amblystoma punctatum* l'exposition de l'ectoblaste banal à l'action de sa solution saline peut

---

[1] L'influence exercée par les tissus de l'hôte sur le développement du matériel greffé semble être plus marquée pour les grands greffons que pour les petits.

[2] D'après Emerson (1945) dans cette solution légèrement modifiée la cicatrisation des blessures se fait plus rapidement et les explantats se développent mieux.

[3] 6-sulfanilamido-2,4 dimethylpyrimidinum.

Transplantations

Age du donneur	Nombre d'expériences	Nombre de manifestations de : Œil — tapetum seul	Œil — tapetum + rétine	Œil — tapetum + 2 rétines	Cerveau — vésicule cérébrale indivisée	Cerveau — diencéphale + 2 hémisphères télencéphaliques	épiphyse ou paraphyse	structures neuroïdales	cellules pigmentaires	estomésenchyme	cartilage
Gastrula à petit blastopore circulaire	4								3		
Préneurula, blastopore allongé. Plaque neurale pas visible . .	13				3		4	5	13	13	
Neurula jeune. Liséré pigmentaire visible	9	1	2		5	3	3	1	7	8	2
Neurula avancée. Bourrelet marqué	12	2	3	4	5	4	6	2	9	12	
Total	38	3	5	4	13	7	13	8	32	33	2
		12			20						

Cultures in vitro

Age du donneur	Nombre d'expériences	Nombre de manifestations de : Œil — tapetum seul	Œil — tapetum + rétine	Œil — tapetum + 2 rétines	Cerveau — vésicule cérébrale indivisée	Cerveau — diencéphale + 2 hémisphères télencéphaliques	épiphyse ou paraphyse	structures neuroïdales	cellules pigmentaires	ectomésenchyme	cartilage
Gastrula à petit blastopore circulaire	4				1				2	4	
Préneurula, blastopore allongé. Plaque neurale pas visible . .	24		1		7			4	3	7	
Neurula jeune. Liséré pigmentaire visible	5		1		2			2	2	2	
Neurula avancée. Bourrelet marqué	6	1	2		5		2?	1	4	1	
Total	39	1	4		15		2?	7	11	14	
		5			15						

Les résultats individuels sont groupés suivant l'âge du donneur au moment de l'opération.

déclencher dans celui-ci des différenciations neurales. Pour contrôler mon matériel de ce point de vue j'ai cultivé des lambeaux d'épiblaste ventrale de gastrulas ou de très jeunes neurulas dans la solution d'Holtfreter. Le résultat de ces expériences (26) a été négatif; je n'ai pas obtenu de différenciations neurales.

Série I. Transplantations (voir tableau ci-joint). — De l'examen histologique des hôtes il résulte que les greffes prélevées à la fin de la gastrulation se sont incorporées entièrement (un cas) ou partiellement (3 cas) dans l'épiblaste ventral de l'hôte. La partie restante a donné de la crête neurale dispersée en éléments pigmentaires. A part quelques cas

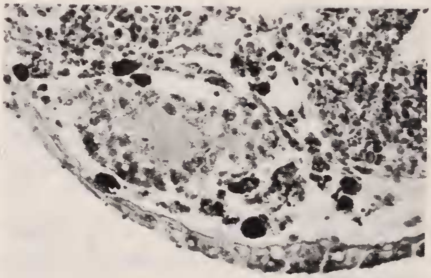

FIG. 1.

Coupe transversale d'un embryon-hôte au niveau du greffon. Celui-ci a formé un amas composé au centre de fibres et de cellules à la périphérie, cet amas est entouré par des cellules ectomésenchymateuses et pigmentaires. Gross. 250 X.

exceptionnels, les greffons plus âgés se sont enfoncés sous l'épiblaste de l'hôte et ont fourni, outre des cellules pigmentaires et mésenchymateuses toujours présentes, soit des nodules, composés au centre de fibres et de cellules à la périphérie (fig. 1), soit des vésicules cérébrales de forme irrégulière et de caractère indéfini. Les greffons prélevés de neurulas encore plus âgées ont été dans quelques cas capables de fournir un cerveau antérieur relativement bien conformé, composé d'un diencéphale et de deux hémisphères telencéphaliques (fig. 2). Souvent le cerveau a été pourvu d'un œil cyclope comme dans tous les cas où l'ébauche cérébrale est séparée suffisamment tôt de son substratum normal. Cet œil unique peut tout de même contenir deux rétines orientées en directions opposées (fig. 3). Il est toujours rejeté vers l'avant, tandis que les hémisphères sont orientés vers l'arrière. Les greffons ont été toujours implantés de telle façon que leur axe antéro-postérieur correspondait à celui de l'hôte. Force est donc d'admettre que s'enroulant et s'enfonçant sous l'épiblaste de l'hôte les greffons se sont tournés à 180°.

Commentaire. — Les résultats exposés ci-dessus sont dans leurs grandes lignes du même caractère que ceux constatés précédemment chez le

Pleurodèle. Il est à noter, cependant, que chez ce dernier l'action de l'inducteur se fait sentir plus tôt que chez le Triton. En effet, les greffons prélevés à la fin de la gastrulation ne donnent chez le Triton que de l'épiblaste banal et des éléments dispersés de la crête neurale. Chez le Pleurodèle, les mêmes transplantations ont déjà donné des vésicules cérébrales indéniables bien qu'irrégulières et atypiques.

Notons encore qu'aussi bien chez le Triton que chez le Pleurodèle

Fig. 2.

Le greffon a donné un cerveau antérieur bien conformé. Coupe au niveau du télencéphale subdivisé en deux hémisphères. Gross. 160 X.

la partie basale du cerveau implanté a été orientée vers la profondeur et sa voûte tournée vers l'épiblaste de revêtement de l'hôte. La formation au sein du matériel greffé de cartilages induits par les tissus de l'hôte, relativement fréquente chez le Pleurodèle, n'a été au contraire observée que dans deux cas seulement chez le Triton.

Série II. Culture in vitro. — Nous constatons de nouveau (voir le tableau) qu'à mesure que l'âge du donneur avance les prestations du matériel neural excisé se montrent de nature de plus en plus élevée. Cependant le degré du développement réalisé par les explantats a été manifestement plus bas que celui des greffons. Dans un cas, néan-

moins, le neurectoblaste prélevé déjà au stade de la gastrula et cultivé dans le sandwich épiblastique a formé une ampoule de caractère nette-

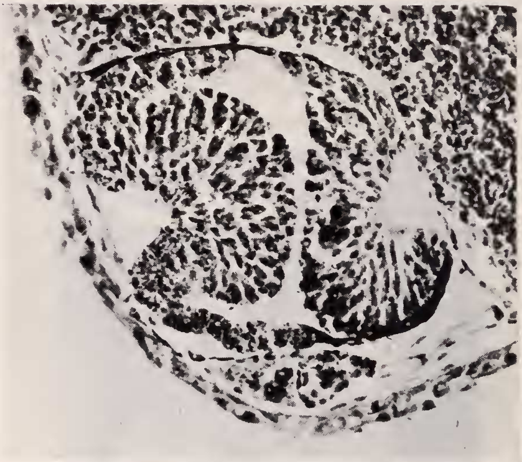

Fig 3.

Greffon prélevé d'une neurula. Coupe au niveau de l'œil cyclope. La vésicule optique renferme deux rétines orientées en sens opposés. Gross. 160 X.

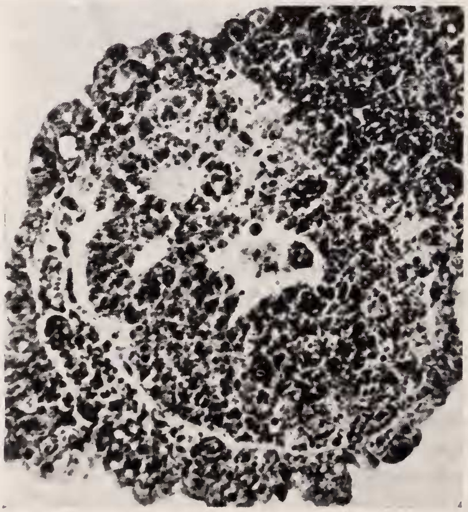

Fig. 4.

Coupe par un sandwich fait du neurectoblaste et d'épiblaste banal. Le neurectoblaste a formé au centre de notre sandwich une masse neurale creusée de petites cavités. Gross. 140 X.

ment neural. La formation de structures très peu évoluées et d'aspect plutôt neuroïdal que neural a été relativement fréquente dans cette série d'expériences. Elles peuvent se présenter sous la forme d'une masse amorphe et à peine délimitée vis-à-vis de l'épiblaste indifférencié qui l'enveloppe. Cette masse est creusée de petites cavités autour desquelles les cellules s'ordonnent plus régulièrement (fig. 4). Dans d'autres cas ces structures ont l'aspect d'une ampoule à paroi mince qui représente la vésicule neurale avortée. Le cas représenté sur notre microphotographie 5 prouve de façon élégante que cette interprétation est juste. Nous y voyons une simple ampoule de ce genre dont la paroi se continue directement dans le tapetum d'une ébauche oculaire minuscule mais typique.

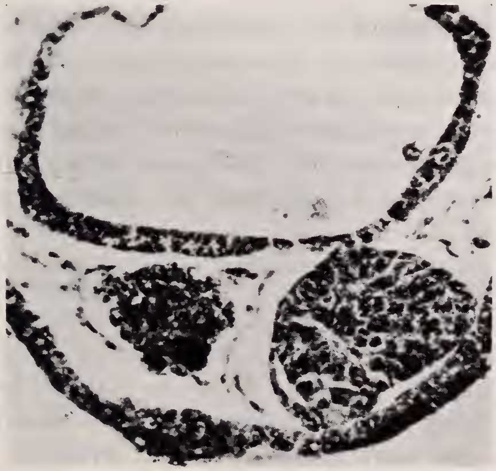

Fig. 5.

Coupe par l'explantat neurectoblastique cultivé dans un sandwich. Le matériel neurectoblastique a formé une ampoule neurale avortée pourvue d'une ébauche oculaire minuscule. Gross. 140 X.

Soulignons encore que les fragments neurectoblastiques cultivés dans les sandwichs n'ont donné, en opposition nette avec ceux transplantés sur l'embryon, que rarement des cellules pigmentaires dispersées[1]. Dans tous les 11 cas, où ces cellules se sont formées, il n'y en a que fort peu. A ce propos nous rappellerons qu'en cultivant les fragments excisés du bourrelet cérébral dans une goutte suspendue de liquide coelomique Man Chiang Niu (1947) a obtenu

[1] Il ne s'agit ici que de chromatophores, l'inhibition de la formation du pigment dans le tapetum n'à pas été observée.

une formation beaucoup plus abondante de cellules pigmentaires que dans les cultures en solution de Holtfreter.

Les explantas cultivés dans les sandwichs n'ont jamais constitué de cerveau antérieur typique, composé de diencéphale et télencéphale subdivisé en deux hémisphères, comme il s'en est formé de façon plus ou moins classique dans la première série de nos expériences. Ils peuvent tout au plus donner naissance à des vésicules cérébrales de caractère indéfini et de forme plus ou moins irrégulière.

Signalons encore incidemment que dans tous les cas les structures fournies par nos explantats ont un aspect manifestement plus jeune que celui des greffons ou bien des tissus d'embryons du même âge. En effet, les cellules des explantats sont encore très chargées de plaquettes vitellines et leurs différenciations histogénétiques sont très peu avancées. Je n'ai pas même obtenu un seul cas de différenciation de l'explantat en fibres et en cellules ganglionnaires, tandis que nos greffes sont déjà composées de la substance blanche et grise dans tous les cas où elles ont constitué des structures neurales.

Interprétation et discussion. — De la comparaison des résultats obtenus, il s'ensuit que le degré du développement réalisé par le neurectoblaste antérieur cultivé dans un sandwich épiblastique est toujours [1] moins élevé que celui du même matériel transplanté sur l'embryon. En effet, dans le premier cas les différenciations morpho- et histogénétiques sont beaucoup moins avancées que dans le second. Or, Holtfreter (1947) a constaté que l'exposition de l'ectoblaste, surtout de sa face profonde, à l'action de la solution saline provoque des modifications de structure du film cortical et augmente la perméabilité cellulaire. Nos explantats avaient été enrobés dans l'épiblaste, mais il ne semble pas que celui-ci les ait protégés suffisamment, d'autant plus que, comme on le sait, l'épiblaste cultivé *in vitro* devient spongieux et imbibé d'eau ou bien prend l'aspect d'une ampoule dilatée et remplie de liquide aqueux. (Ces deux formes se trouvaient représentées dans notre matériel.)

Supposons donc qu'effectivement la perméabilité cellulaire dans nos explantats se soit trouvée augmentée et qu'en conséquence les substances contenues dans l'explantat et responsables de ses différenciations se soient partiellement dispersées par diffusion. Nous

[1] Abstraction faite d'un seul cas exceptionnel.

aurons ainsi une belle explication de la dégradation générale du potentiel morphogénétique (Dalcq et Pasteels) de nos explantats. Cependant nous avons encore constaté une autre différence entre le développement des explantats et des greffons. Ces derniers manifestent une tendance beaucoup plus marquée à former des chromatophores. Cette différence limitée à un type particulier de différenciations cellulaires ne peut être expliquée par la supposition énoncée précédemment. Les cellules pigmentaires proviennent de la crête neurale et la formation de celle-ci correspond justement au degré le plus bas de l'induction neurale. Il nous faut donc admettre l'alternative suivante: ou bien l'humeur interstICIelle de l'hôte favorise les tendances intrinsèques du matériel greffé à former des chromatophores ou ces tendances sont en quelque sorte freinées par l'action de la solution saline. L'influence inductrice complémentaire exercée par les tissus adjacents de l'hôte paraît être d'autant plus probable que nous avons obtenu à différentes reprises la formation, autrement inexplicable, de cartilages aux dépens du matériel greffé. D'autre part, on ne peut pas exclure la possibilité d'une action plus générale de cette ambiance nouvelle sur le développement des greffons. Nous avons déjà souligné que la partie basale du cerveau constitué aux dépens du matériel greffé, donc la partie plus volumineuse et riche en éléments cellulaires, a toujours été tournée vers le tractus digestif de l'hôte.

BIBLIOGRAPHIE

1937. Dalcq, A. et J. Pasteels. Arch. Biol., 48, 669-710.
1947. Damas, H. Arch. Biol., 58, 15-57.
1945. Emerson, S. Journ. exp. Zool., 100, 497-522.
1947. Gallera, J. Arch. Biol., 58, 221-264.
1944. Holtfreter, J. Journ. exp. Zool., 95, 307-343.
1945. —— *Ibid.*, 98, 161-209.
1947. —— *Ibid.*, 106, 197-222.
1947. Man Chiang Niu. Journ. exp. Zool., 105, 79-113.